

ヒト卵巣におけるcell turnoverの研究

著者	船山 由有子
号	2808
発行年	1995
URL	http://hdl.handle.net/10097/21294

氏 名（本籍） ふな 船 やま 山 ゆ う こ 由 有 子

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 8 0 8 号

学位授与年月日 平 成 7 年 9 月 13 日

学位授与の条件 学位規則第4条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 62 年 3 月 31 日
山形大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 ヒト卵巣における cell turnover の研究

（主 査）

論文審査委員 教授 矢 嶋 聰 教授 名 倉 宏

教授 高 橋 徹

論文内容要旨

視床下部-下垂体-卵巣系で微妙に調節されている卵胞発育の過程についての詳細は不明であり、種々の発育段階にある卵胞や黄体の細胞増殖について検討することは、卵胞の発育機序や黄体退縮機構を研究する上で重要と考えられる。一方、最近の動物実験により、卵胞閉鎖や黄体退縮機構と apoptosis の関連性が注目されているが、ヒトの卵胞閉鎖や黄体退縮との関与は不明である。

本研究においては、細胞増殖あるいは細胞死といった観点からヒトにおける卵胞発育、閉鎖、黄体退縮機構の一端を明らかにすることを目的として、正常月経周期婦人の卵胞・黄体を対象として検討した。

種々の婦人科疾患の手術の際、病理組織学的検索を目的として摘出された卵巣のうち、組織学的に正常で、正常月経周期を有する 27~49 歳の 37 症例を用いた。卵巣は摘出後 4 %PFA (paraformaldehyde, pH7.4) にて 4 °C, 12 時間固定してパラフィン包埋し、3 μ に薄切して用いた。さらに全症例について、月経歴聴取、Silverberg の分類に基づいた子宮内膜日付診を行い、血清 estradiol 値および progesterone 値を RIA で測定した。以上のデータをもとに、症例の卵巣周期を決定し、P450arom (aromatase), P450scc (side chain cleavage), 3 β HSD (3 β -hydroxysteroid dehydrogenase) および P450c17 (17 α -hydroxylase) を免疫染色して発現の有無を観察し、Clement の分類および Suzuki らの報告に基づき卵胞を 7 種類 (原始卵胞, 一次卵胞, 前胞状卵胞, 卵胞期非優位卵胞, 黄体期非優位卵胞, 優位卵胞, 閉鎖卵胞), 黄体を 3 種類 (機能黄体, 退縮黄体 1, 退縮黄体 2) に分類した。

細胞増殖については細胞増殖関連抗原である Ki67 と proliferative cell nuclear antigen (PCNA) の免疫染色, AgNORs 法, apoptosis については 3'-OH nick end labeling (TUNEL) 法および apoptosis 関連抗原である Ley の免疫染色を用いた。Ki67 と PCNA は陽性細胞の % を示す Labeling Index (LI) を, AgNORs は NORs の平均数を示す AgNORs Counts (AC) を各々算出した。統計学的検討は、分類した卵胞・黄体間の比較を Scheffe の多重比較にて行い、 $p < 0.01$ をもって有意差ありとした。

顆粒膜細胞では Ki67 陽性細胞は原始卵胞, 一次卵胞には認められず、前胞状卵胞以降で Ki67 LI が有意に上昇した。PCNA でも前胞状卵胞以降で PCNA LI が有意に上昇した。AgNORs では卵胞期・黄体期非優位卵胞, 優位卵胞で AC が有意に増加していた。これらの所見は、ヒトの卵胞発育において前胞状卵胞以降から活発な細胞増殖が始まり、発育中の卵胞の径や細胞数が増加することを反映しているものと考えられる。莢膜細胞においては、間質細胞から莢膜細胞への

分化が始まる前胞状卵胞以降は LI や AC の著明な増加は認められなかった。

一方、顆粒膜・莢膜細胞とも卵胞期・黄体期非優位卵胞，優位卵胞の間に，LI や AC の有意差を認めなかった。これより，今回検索した非優位卵胞の一部には，次周期に selection を受ける対象となりえる卵胞，すなわち増殖能の高い卵胞が存在することが示唆された。

TUNEL 陽性細胞および apoptosis 関連抗原の Ley 陽性細胞は，どの卵胞でも認められなかった。したがって，ヒト卵胞発育過程においては細胞増殖と apoptosis の発現のバランスが選択機序となっていないことが明らかになった。さらに，卵胞閉鎖にも関与していない可能性が高いと考えられる。

Ki67, PCNA の発現は内分泌学的に活発な機能黄体において著明に認められたが，退縮過程にある黄体では発現は減少していた。退縮黄体のごく一部に TUNEL 陽性細胞が認められたのみで，Ley の発現は認められなかった。ヒトの黄体退縮過程において，細胞増殖能の低下は関与しているが apoptosis は重要な意義を有していない可能性が示唆された。

以上の結果から次のようにまとめられる。

- 1) 卵胞発育とともに Ki67, PCNA などの細胞増殖関連因子が発現し，顆粒膜・莢膜細胞における増殖の機構の一端が明らかになった。
- 2) 優位卵胞は，増殖能および apoptosis の有無で非優位卵胞（卵胞期，黄体期）と区別することはできない。この結果より，黄体期における非優位卵胞の一部は，次周期以降に優位卵胞へ移行する可能性を有することが示唆された。
- 3) ヒト卵巣では apoptosis による卵胞閉鎖や黄体退縮機構が存在していない可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

ヒト卵巣における卵胞発育や排卵機序は視床下部－下垂体－卵巣系で微妙に調節されているが、その際の細胞増殖や細胞死 (apoptosis) については未だ不明である。一方最近の動物実験により、卵胞閉鎖や黄体退縮機構と apoptosis の関連性が注目されているが、ヒト卵巣での関与は不明である。本研究では正常月経周期婦人における細胞増殖や apoptosis について検討し、ヒトの卵胞発育、閉鎖、黄体退縮機構の解明を試みた。

種々の婦人科疾患の手術で摘出された卵巣のうち組織学的に正常で、正常月経周期を有する 27～49 歳の 37 症例を対象とし、4 %PFA パラフィン包埋標本を作製した。全症例について月経歴聴取、子宮内膜日付診、血清 estradiol 値および progesterone 値測定 (RIA) を行って卵巣周期を決定し、さらに性ステロイド合成酵素である aromatase, side chain cleavage, 3β -hydroxysteroid dehydrogenase および 17α -hydroxylase を免疫染色して発現の有無を観察し、Clement の分類および Suzuki らの報告に基づき卵胞を 7 種類 (原始卵胞、一次卵胞、前胞状卵胞、卵胞期非優位卵胞、黄体期非優位卵胞、優位卵胞、閉鎖卵胞)、黄体を 3 種類 (機能黄体、退縮黄体 1、退縮黄体 2) に分類した。細胞増殖については細胞増殖関連抗原である Ki67 と proliferative cell nuclear antigen (PCNA) の免疫染色、AgNORs 法、apoptosis については 3'-OH nick end labeling (TUNEL) 法および apoptosis 関連抗原である Ley の免疫染色を用いた。Ki67 と PCNA は陽性細胞の % を示す Labeling Index (LI) を、AgNORs は NORs の平均数を示す AgNORs Counts (AC) を各々算出した。

卵胞では、Ki67、PCNA 陽性の顆粒膜細胞数が前胞状卵胞以降で有意に上昇、AC も卵胞期・黄体期非優位卵胞、優位卵胞で有意に増加し、卵胞発育中に卵胞径や細胞数が増加することを反映しているものと考えられた。さらに、顆粒膜・莖膜細胞とも非優位卵胞と優位卵胞の間に LI や AC の有意差を認めなかったことより、非優位卵胞の一部には次周期に選択を受ける対象となりえる増殖中の卵胞が存在することが示唆された。

黄体では、Ki67、PCNA の発現は内分泌学的に活発な機能黄体において著明に認められたが、退縮過程にある黄体では発現は減少していた。apoptosis は退縮黄体のごく一部に TUNEL 陽性細胞が認められたのみで Ley 陽性細胞の発現は認められず、ヒトの卵胞発育や黄体退縮過程において重要な意義を有していない可能性が考えられた。

以上、本研究はヒト卵巣周期の各時期における卵胞発育や黄体形成を細胞増殖と細胞死という観点から詳細に検討した論文である。ヒトにおける卵胞発育や閉鎖、黄体退縮機構の一端を明らかにして、ヒトの発育卵胞選択や排卵機序の解明に重要な知見を提供するものであり、学位論文にふさわしいものと判定される。